

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	14
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	16
ВВЕДЕНИЕ	20

ЧАСТЬ 1. КЛАССИЧЕСКИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ БАКТЕРИЙ ПРИ СЕПСИСЕ

Глава 1. Проблема сепсиса	25
1.1. Немного из истории	26
1.2. СЕПСИС-1, СЕПСИС-2, СЕПСИС-3	27
1.3. Летальность при сепсисе	28
1.4. Микробная нагрузка	30
Список литературы	31
Глава 2. Современная этиологическая диагностика (Черенькая Т.В.)	32
2.1. Некультуральные методы диагностики	32
2.2. Методы молекулярной диагностики	32
Список литературы	36
Глава 3. Клинически значимые бактерии	38
3.1. Общие сведения о клинически значимых бактериях	38
3.2. Грамотрицательные бактерии	48
3.2.1. Энтеробактерии	48
3.2.2. Неферментирующие грамотрицательные бактерии	50
3.3. Грамположительные бактерии	52
3.3.1. Стафилококки	52
3.3.2. Стрептококки	53
3.3.3. Энтерококки	55
3.4. Анаэробные бактерии	56
Список литературы	63
Глава 4. Микробные биопленки	64
Список литературы	72
Глава 5. Поиск новых концепций сепсиса	73
Список литературы	79

ЧАСТЬ 2. МЕТАБОЛОМНЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ СЕПСИСА

Глава 6. Метаболомика, метаболическое профилирование и биомаркеры (Оленин А.Ю.)	83
6.1. Методология поиска биомаркеров сепсиса	84
6.2. Метаболомика в норме и при критических состояниях	87
Список литературы	88
Глава 7. Поиск низкомолекулярных соединений — потенциальных биомаркеров сепсиса (Оленин А.Ю.)	89
7.1. Аминокислоты и их производные	89
7.2. Полиолы и их производные	90
7.3. Жирные кислоты и их производные	91
7.4. Гидроксикислоты и их производные	93
7.5. Амины, азотсодержащие гетероциклические соединения и их производные	93
7.6. Азотсодержащие основания нуклеиновых кислот, нуклеозиды и их производные	94
Список литературы	108
Глава 8. Разработка и адаптация методов для клиники	110
Список литературы	115

**ЧАСТЬ 3. АРОМАТИЧЕСКИЕ МЕТАБОЛИТЫ
КАК ОСНОВНОЙ ОБЪЕКТ ИЗУЧЕНИЯ ПРИ СЕПСИСЕ**

Глава 9. Основные источники ароматических метаболитов	119
9.1. Растительные полифенолы	119

9.2. Ароматические аминокислоты	121
Список литературы	121
Глава 10. Эндогенный и микробный метаболизм ароматических аминокислот	123
10.1. Бактериальная биodeградация тирозина и фенилаланина	123
10.2. Нарушения эндогенного метаболизма	124
Список литературы	128
Глава 11. Биологические эффекты фенилкарбоновых кислот при различных заболеваниях и состояниях (Бедова А.Ю.)	130
11.1. Пищеварение и заболевания ЖКТ	130
11.2. Неврологические и психические расстройства	131
11.3. Злокачественные новообразования	132
11.4. Заболевания органов печени и почек	132
11.5. Экспериментальная терапия фенилкарбоновыми кислотами	133
11.6. Эффекты на клетках растений, животных и человека	136
11.7. Свойства фенилкарбоновых кислот в микробиоценозах	137
Список литературы	139
Глава 12. Способность бактерий к продукции и потреблению ароматических экзoметаболитов	142
12.1. Видоспецифические особенности	143
12.2. Сравнение индигенных анаэробов и бактерий — возбудителей сепсиса	149
Список литературы	152
Глава 13. Фенилкарбоновые кислоты в крови здоровых и больных	153
13.1. Шесть групп пациентов	156
13.2. Динамика метаболитов при гладком течении послеоперационного периода	162
13.3. Особенности при послеоперационных осложнениях	164
13.4. Различия в динамике метаболитов фенилаланина и тирозина	167
ЧАСТЬ 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ СЕПСИСА С УЧАСТИЕМ АММ	
Глава 14. Метаболическая конвергенция бактерий и митохондрий (Федотчева Н.И.)	171
14.1. Сходство митохондрий и бактерий	171
14.2. Дисфункция митохондрий в патогенезе сепсиса	173
14.3. Дисфункция митохондрий и метаболизм	175
14.4. Дисфункция митохондрий и окислительный стресс	175
14.5. Влияние микробных метаболитов фенольной природы на функции митохондрий	178
14.6. Влияние фенольных кислот на активность митохондриальных дегидрогеназ	182
Список литературы	186
Глава 15. Влияние АММ на фагоцитоз (Черневская Е.А.)	190
15.1. Нейтрофилы и фагоцитоз при сепсисе	191
15.2. Связь с тяжестью бактериальной инфекции	193
15.3. Нарушения фагоцитоза под влиянием микробных метаболитов <i>in vitro</i>	195
Список литературы	198
Глава 16. Изучение АММ в экспериментах <i>in vivo</i> (Черневская Е.А.)	200
16.1. Кинетика АММ	200
16.2. Антибиотики и АММ	201
16.3. Артериальное давление и АММ	202
16.4. Перитонит и АММ	203

ЧАСТЬ 5. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АРОМАТИЧЕСКИХ МЕТАБОЛИТОВ

Глава 17. Оценка тяжести состояния в ОРИТ по уровню ФКК (Осипов А.А., Саршор Ю.Н.)	207
17.1. Сопоставление с международными шкалами APACHE II и SOFA	208
17.2. Оценка тяжести состояния при тяжелой пневмонии	209
17.3. Особенности абдоминальной инфекции	211

Глава 18. Оценка эффективности лечения (Осипов А.А.)	215
18.1. Оценка по уровню ключевых ароматических метаболитов	216
18.2. Клинические наблюдения	216
18.3. Сравнение с лактатом	221
Список литературы	223
Глава 19. Связь АММ с развитием органных дисфункций	224
19.1. ROC-анализ связи ключевых ФКК с дисфункцией органов/систем	227
19.1.1. Связь дисфункции дыхательной системы с уровнем фенилкарбоновых кислот в крови	228
19.1.2. Связь дисфункции сердечно-сосудистой системы с уровнем фенилкарбоновых кислот в крови	228
19.1.3. Связь почечной дисфункции с уровнем фенилкарбоновых кислот в крови	229
19.1.4. Связь дисфункции печени с уровнем фенилкарбоновых кислот в крови	229
19.1.5. Связь коагулопатии с уровнем фенилкарбоновых кислот в крови	230
19.1.6. Связь дисфункции нервной системы с уровнем фенилкарбоновых кислот в крови	230
19.2. Расширенный анализ с применением методов хеометрики (Паутова А.К.)	231
Список литературы	236
Глава 20. АММ и септический шок	237
20.1. Гипотеза о роли АММ в патогенезе септического шока	237
20.2. Результаты клинического исследования (Саршор Ю.Н.)	237
Список литературы	240
Глава 21. Связь АММ с гормонами и биомаркерами (Саршор Ю.Н.)	242
21.1. Дизайн исследования и группы пациентов	242
21.2. Связь АММ с АКГГ, кортизолом, прокальцитонином, NT-proBNP	244
Список литературы	249
Глава 22. Перспективы в лечении сепсиса	251
22.1. Пять постулатов сепсиса	251
22.2. Метаболомный подход к антимикробной терапии	253
22.3. Метаболомный подход к экстракорпоральной детоксикации	253
22.4. Дисфункция «невидимого органа» и заместительная терапия	255
22.5. Фекальная трансплантация или деконтаминация?	256
Список литературы	258
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	260
Приложения	262
Приложение 1 (к части 3)	262
Методика ГХ-МС анализа образцов сыворотки крови	262
Приложение 2 (к части 4)	266
Этапы и условия проведения микробиологических исследований	266
Приложение 3 (к главе 15)	269
Исследования фагоцитоза <i>in vitro</i>	269
Приложение 4	270
Патенты авторского коллектива	270

Глава 5

ПОИСК НОВЫХ КОНЦЕПЦИЙ СЕПСИСА

Высокие цифры летальности от сепсиса и септического шока подтверждают необходимость поиска новых концепций и альтернативных подходов к лечению сепсиса. Неудовлетворенность существующими представлениями нарастает по мере накопления данных, обобщающих отсутствие положительных результатов микробиологических исследований у септических больных. Установлены следующие факты: по данным EPIC II исследования, у пациентов отделений ОРИТ с клинической картиной инфекции результаты микробиологического обследования были положительными не более чем в 70% случаев, а по данным исследования SOAP, у больных с подтвержденным сепсисом — всего в 60%. Важно подчеркнуть, что эти исследования проведены в экономически развитых странах, с высоким уровнем оснащенности микробиологических лабораторий и современными четкими протоколами обследования пациентов. Это выглядит парадоксально; если главный этиологический агент при сепсисе — живая бактериальная клетка, то почему в 30–40 случаях этот агент отсутствует у больных? Эти факты справедливо ставят под сомнение, во-первых, надежность классических методов микробиологической диагностики, «заточенных» на выделение из клинических образцов жизнеспособных колониеобразующих бактерий, а во-вторых, правильность выбранной мишени.

Для достижения главной цели — снижение летальности от сепсиса — получено немало доказательств эффективности лечебных стратегий, основанных на изменении подходов к антибиотикотерапии. Периодически публикуются сообщения о локальных инициативах, направленных на снижение летальности от сепсиса [Crawford B. et al., 2012], например, администрация и врачебный персонал в двадцать одном госпитале штата Калифорния (США) после детального разбора 50 летальных случаев убедились в том, что именно сепсис является ведущей причиной госпитальной летальности. В связи с этим был разработан алгоритм быстрой идентификации сепсиса, созданы мультидисциплинарная команда, единая электронная база данных, **система быстрого реагирования**, региональная консультативная помощь. Число зарегистрированных случаев сепсиса возросло с 35,7 до 98,3 на 1000 госпитализированных, но благодаря ранней адекватной терапии все показатели лечения улучшились, а общая летальность в госпиталях снизилась на 14% [Jensen J.U. et al., 2011]. Добиться еще более значительных успехов в повышении эффективности антибиотикотерапии удастся внедрением в клинику прокальцитонина: мониторинг этого биомаркера позволяет быстро (уже в течение первых суток) и объективно оценить адекватность выбранного препарата, своевременно осуществить коррекцию терапии, сократить длительность лечения антибиотиками [Riedel S., 2012; Liu D. et al., 2016], снизить расходы на лечение [de Jong E. et al., 2016], что доказано у разных категорий больных, включая онкологических пациентов самого высокого риска [Durnas B. et al., 2016].

В 2017 г. опубликованы результаты, полученные российскими исследователями при внедрении **системы мониторинга и управления антибиотикорезистентностью** в многопрофильном стационаре, с помощью которой удалось повысить эффективность антимикробной терапии и снизить летальность при инфекциях кровотока у хирургических пациентов с 36,8 до 22,2% [Гусаров В. Г. и др., 2017].

В последние несколько лет растет число исследований, выполненных в достаточно авторитетных клиниках Западной Европы, подтверждающих реальную возможность снизить число инфекций и летальность в отделениях реанимации при

Одна из новых концепций сепсиса условно названа «**концепцией гибернации**». Приведенные выше факты позволяют рассматривать полиорганную недостаточность при сепсисе как временное состояние «замирания» или «засыпания» метаболизма клеток, схожее с известным в природе явлением гибернации. Этот адаптивный механизм, по мнению M. Singer [Singer M., 2006], является своего рода защитной реакцией к меняющимся условиям существования и предотвращает массивную гибель клеток. Крайне важно, что на ранних стадиях это состояние является обратимым, т.е. благоприятный исход тем более вероятен, чем раньше сепсис будет распознан. При этом решающую роль соответственно играет адекватная цель-ориентированная терапия. Однако для выбора верной мишени нужны новые знания о механизмах развития этой «гибернации». Тот факт, что при сепсисе подвергаются дисфункции клетки различных органов, косвенно указывает на существование универсального механизма регуляции и универсальной мишени.

Как уже указывалось выше, ряд авторов предлагают рассматривать ПОН как своеобразную реакцию адаптации, сходную с явлением гибернации — через ингибацию митохондрий. Одна из версий: прямое повреждающее действие на митохондрии могут оказывать такие эндогенные газообразные соединения, как оксид азота (NO), оксид углерода (CO), сероводород (H_2S), тем более что все 3 газа образуются при воспалении. В литературе есть данные о способности этих газов ингибировать IV комплекс дыхательной цепи митохондрий, препятствуя передаче электронов и образованию супероксид радикалов, которые ведут к формированию пероксинитритов, а более реактивные формы ингибируют I комплекс обратимо через нитрозилирование или необратимо через нитрование [Федотчева Н.И. и др., 2010]. При истощении глутатиона, важного митохондриального антиоксиданта, возникает повреждение комплекса I дыхательной цепи митохондрий активными формами кислорода (АФК) [Белобородова Н.В. и др., 2013].

Результаты наших исследований в области микробного метаболизма легли в основу нового направления в изучении сепсиса — роли бактериальных экзометаболитов в развитии сепсиса, в том числе посредством влияния метаболитов микробного происхождения на функции митохондрий.

В настоящее время возрос интерес к микробиому человека и экзометаболизму бактерий. Известно, что в организме человека различают 4 группы тканей — эпителиальную, соединительную, нервную и мышечную. Сегодня можно говорить о реальном участии так называемой «пятой ткани» в метаболических процессах организма человека.

«Пятой тканью» называют МИКРОБИОМ человека, т.е. совокупность клеток и коллективных геномов микроорганизмов, населяющих все биоценозы, наиболее значимым из которых является микробиота кишечника человека.

Микробиом здорового человека насчитывает до 500–1000 видов микроорганизмов и состоит из астрономического числа микробных клеток (10^{13} – 10^{14}). Важно иметь в виду, что число генов у микробиоты кишечника в 100 раз больше, чем в геноме человека, что и объясняет значительно более высокую приспособляемость микробиоты к изменениям условий среды обитания по сравнению с организмом самого человека. Поскольку для микробиоты именно организм человека является средой, критические состояния, сопровождающиеся изменениями параметров гомеостаза человека, бактериями будут переноситься лучше, чем клетками самого человека, за счет расширенных возможностей к экспрессии генов, обеспечивающих выживание бактерий в измененных условиях. Другими словами, прогрессирование любого тяжелого заболевания неизменно приводит к нарушениям метаболизма, а клетки

и ткани организма человека имеют в сравнительном плане более ограниченные компенсаторные возможности в поддержании жизнедеятельности, чем микробиом [Белобородова Н.В., 2012; Beloborodova N.V., 2017].

Важно отдавать себе отчет, что микробиом не просто выживает, а на определенных этапах заболевания (при развитии органичных нарушений, т.е. *при критических состояниях*) *начинает работать против организма хозяина*, в биологическом плане, по-видимому, *воспринимая человека* (его ткани, органы, клетки и субклеточные структуры — митохондрии), как конкурента в условиях ограниченных ресурсов.

Предложена принципиально новая гипотеза о механизме влияния бактерий с помощью низкомолекулярных экзометаболитов бактерий, а именно ароматических микробных метаболитов (АММ), на функцию митохондрий и гормональную регуляцию в организме человека.

Поломка этих механизмов играет роковую роль в развитии и танатогенезе сепсиса.

В основе нашего научного поиска — представления о том, что микробиом располагает системой сигнальных молекул, которые в норме направлены на регуляцию метаболической активности и численности различных видов бактерий (более 100). В случае развития критического состояния ряд сигнальных молекул «устремляется» во внутреннюю среду человека (кровь), а в качестве основной мишени «выбирает» клетки организма хозяина (и/или митохондрии). Нам удалось определить химическую структуру низкомолекулярных микробных метаболитов, которые продуцируются и потребляются бактериями, составляющими микробиоту здорового организма. Наиболее значимые из них имеют ароматическое строение, поэтому мы их называем «ароматические микробные метаболиты» (АММ).

Установлено, что их профиль (соотношение) и уровни в крови человека претерпевают выраженные изменения при сепсисе. Так, содержание некоторых АММ в крови повышается при сепсисе многократно, в 8–10 раз и более. Это позволяет использовать определенные микробные метаболиты для диагностики сепсиса, а их суммарное количество — для мониторинга эффективности лечения, в качестве маркеров, отражающих степень микробной нагрузки, что будет детально представлено в следующих главах этой монографии.

На сегодняшний день зафиксировано, что негидроксилированные и гидроксилированные АММ способны влиять на функцию митохондрий (см. главу 14), но точки приложения их действия и эффекты существенно различаются. Кроме того, полученные результаты клинических и экспериментальных исследований подтверждают, что именно гидроксилированные АММ, доминирующие в метаболическом профиле фенольных метаболитов сыворотки крови у пациентов с сепсисом, влияют на функциональное состояние нейтрофилов, подавляя их активность, что может играть существенную роль в развитии иммуносупрессии (см. главу 15).

Следует отметить, что предложенная концепция о роли АММ в патогенезе сепсиса не отрицает, а, напротив, логично объединяет приведенные выше представления о роли митохондриальных и метаболических нарушений, а также объясняет загадочный механизм обратимости органичных дисфункций на ранних стадиях септического процесса.

В процессе работы над проблемой сформировалось представление о существовании мало изученного явления интеграции метаболизма человека и его микробиоты, где ключевую роль играют именно ароматические метаболиты (рис. 5.1).

Логично предположить, что некоторые АММ способны проникать через гематоэнцефалический барьер и проявлять биологические эффекты непосредственно на

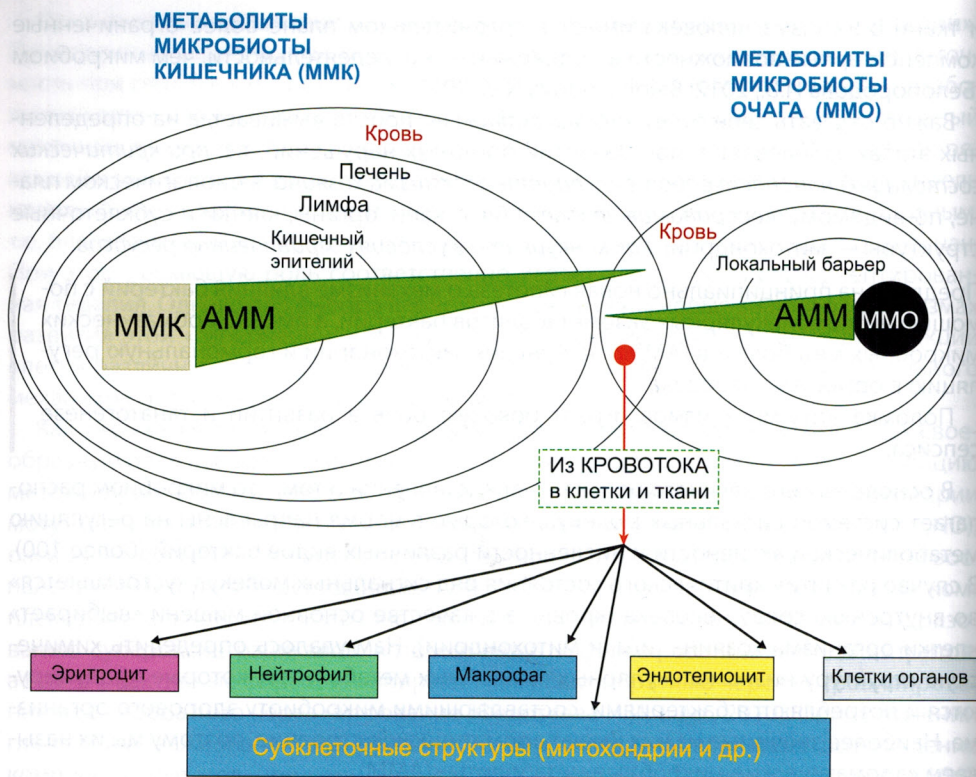


Рис. 5.1. Интеграция метаболизма человека и его микробиоты

клетки (например, через их рецепторный аппарат и внутриклеточные структуры — митохондрии) гипоталамо-гипофизарных центров регуляции гомеостаза.

Приведенные выше данные легли в основу рабочей гипотезы о влиянии бактерий посредством своих низкомолекулярных экзометаболитов, а именно АММ, на нейрогормональную регуляцию организма хозяина вплоть до уровня высшего вегетативного центра.

В свете этой гипотезы момент манифестации инфекции, т.е. развития состояния под названием «сепсис», означает высшую степень метаболической дезадаптации и, как результат, последующее «перепрограммирование» гипоталамо-гипофизарной регуляции метаболизма под воздействием АММ в пользу микробиоты, т.е. по сути запуск механизма умирания (рис. 5.2).

В том случае, если гипотеза о роли АММ найдет свое подтверждение в дальнейших исследованиях, это поможет ответить на многие вопросы, например, почему при развитии сепсиса становится невозможной самокоррекция глубоких метаболических нарушений, но своевременная и адекватная антибиотикотерапия в большинстве случаев делает этот процесс обратимым, способствуя восстановлению жизненно важных функций в организме больного. Ответ прост — выздоровление возможно, когда лечение, и в первую очередь антибиотикотерапия, как потенциально наиболее мощное средство воздействия на микробный метаболизм, реально оптимизирует профиль микробных метаболитов, достигая необходимого баланса.

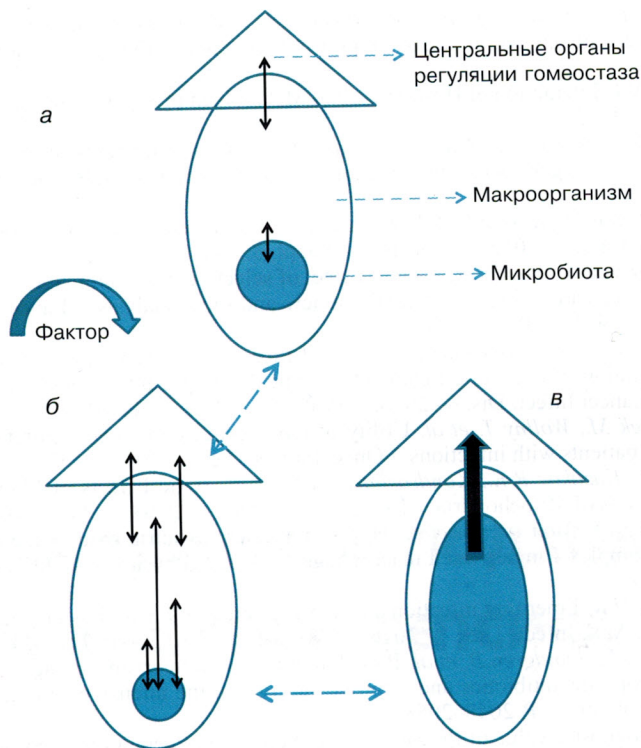


Рис. 5.2. Иллюстрация к гипотезе о связи экзометаболитов микробиоты и регуляции жизнеобеспечения (из статьи «Сепсис — новый взгляд на проблему» [Н.В. Белобородова (Тер. архив. 2013. № 11. с 82–90)]):

- а — в состоянии здоровья взаимодействие метаболитов микробиоты и организма хозяина контролируют центральные органы регуляции, обеспечивая поддержание гомеостаза;
- б — под действием повреждающих факторов сохранение и поддержание гомеостаза возможны в условиях активации систем регуляции и адекватного лечения, обеспечивающего подавление метаболической активности микробиоты;
- в — при несвоевременном/неадекватном лечении и/или первичной чрезмерной микробной нагрузке метаболиты бактерий преодолевают гематоэнцефалический барьер и «перепрограммируют» органы центральной регуляции метаболизма, запуская механизм умирания макроорганизма

Мы считаем, что стоим на пороге принципиально новых диагностических и лечебных решений, основанных на концепции о роли микробных метаболитов и **метаболическом подходе** к расшифровке механизмов развития сепсиса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белобородова Н.В. Сепсис — новый взгляд на проблему // Терапевт архив. — 2013. — № 11. — С. 82–90.
- Белобородова Н.В. Интеграция метаболизма человека и его микробиома при критических состояниях // Общая реаниматол. — 2012. — № 4. — С. 42–54.
- Белобородова Н.В., Теплова В.В., Федотчева Н.И. Роль микробных метаболитов в дисфункции митохондрий при сепсисе. — Саарбрюккен: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2013. — 89 с.
- Гусаров В.Г., Карпов О.Э., Дементенко М.В. и др. Изменение этиологической структуры клинических исходов бактериемий у хирургических больных как результат мониторинга управления антибиотикорезистентностью в многопрофильном стационаре // Медицинский вестник Юга России. — 2017. — № 1. — С. 51–59.



БЕЛОБОРОДОВА Наталья Владимировна — доктор медицинских наук (1996), профессор (1998), зав. лабораторией метаболизма при критических состояниях ФНКЦ РР, Москва.

Сфера научных интересов: инфекция, сепсис, биомаркеры, микрoэкология человека, сигнальные молекулы бактерий, метаболомная диагностика, антибиотикотерапия. Опубликовано более 400 научных работ, в том числе 12 монографий, главы в руководствах, учебниках, статьи в российских и зарубежных журналах, 8 патентов. Под руководством Н.В. Белобородовой защищено более 20 диссертаций.

Основные научные труды:

Монография «Хирургическая инфекция у новорожденных», Т.В. Красовская, Н.В. Белобородова. М.: Медицина, 1992. 254 с.

Руководство для врачей «Алгоритмы антибиотикотерапии», Н.В. Белобородова, М.Б. Богданов, Т.В. Черненькая. М., 1999. 144 с.

Монография «Сепсис у детей», Ю.Ф. Исаков, Н.В. Белобородова. М.: Изд. Мокиев, 2001. 370 с.

Книга «Бактериальные инфекции в стационаре» под ред. Н.В. Белобородовой. М., 2005. 146 с.

Монография «Инфекция в кардиохирургии», Л.А. Бокерия, Н.В. Белобородова. М., 2007. 572 с.

Статья «Интеграция метаболизма человека и его микробиома при критических состояниях», Н.В. Белобородова // Общая реаниматология. 2012. № 8 (4). С. 42–54.

Монография «Роль микробных метаболитов в дисфункции митохондрий при сепсисе», Н. Белобородова, В. Теплова, Н. Федотчева. LAP Lambert Academic Publishing, Germany, 2013. 89 p.

Глава в монографии «Interaction of host-microbial metabolism in sepsis». Chapter 1, N.V. Beloborodova // In: «Sepsis» ed. by V. Kumar. Publisher: InTech, 2017. 158 p. DOI: 10.5772/68046.

Научные награды: диплом премии им. Н.Ф. Филатова в области педиатрии (1996), премия Президиума РАМН в области фундаментальных медицинских исследований (2001), медаль и премия им. А.Н. Бакулева «За успехи в решении проблемы инфекции в кардиохирургии» (2008), медаль имени Роберта Коха «За достижения в науке» (2013), международная именная премия им. Марии Коатес (2014).

За работу «Tyrosine metabolism disorder and the potential capability of anaerobic microbiota to decrease the value of aromatic metabolites in critically ill patients» награждена престижной премией «International Sepsis Forum» в Институте Пастера, Париж (2014). С 2003 года избрана действительным членом Европейской академии естественных наук (Hannover, Germany). С 2017 года — эксперт Российского научного фонда.